云　南　植　物　研　究　2008, 30 (4): 485～488
Acta Botanica Yunnanica　DOI: 10.3724 SP.J.1143.2008.07251

一串红胚胎发育过程中多胺含量的变化

胡国富, 李凤兰, 刘荣梅, 袁　强, 胡宝忠*
(东北农业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨　150030)

摘要: 选取发育正常和败育一串红 (*Saliva splendens*) 5 个不同时期的胚胎, 分别提取、测定多胺 (精胺、亚精胺、腐胺与尸胺) 的含量变化。通过比较一串红胚胎发育不同阶段多胺物质的变化规律, 探讨多胺在一串红胚胎发育中的生理作用。结果表明, 一串红的胚胎败育和胚珠中较低的多胺含量及其在发育进程中较大的降幅有关; 在盛花期, 胚胎发育的关键时期, 正常胚珠中亚精胺的含量有一个明显的峰值, 而败育的胚珠中则无, 这表明亚精胺含量变化在胚胎发育中起关键调节作用。

关键词: 一串红; 多胺; 胚胎发育
中图分类号: Q 945　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0253-2700 (2008) 04-485-04

The Change of Polyamines Content during Embryo Development in *Saliva splendens* (Labiatae)

HU Guo-Fu, LI Feng-Lan, LIU Rong-Mei, YUAN Qiang, HU Bao-Zhong*
(*Life Science Collage of Northeast Agricultural University*, Harbin 150030, China)

Abstract: The change of polyamines content were examined from five different normal and abortion embryonic developmental stages. Through comparing the rule of the change of polyamine material at different embryo developmental stage, we investigated physiological functions of polyamines. The results showed that embryo abortion was related with less polyamine content in ovule, and its dramatically drop during development. In flourishing florescence which was key period of embryo development, spd content in normal ovule had a apparent peak amplitude, while this peak amplitude wasn't appear in abortion ovule, which indicated that spd played an important effect on embryo development.

Key words: *Saliva splendens*; Polyamine; Embryo development

多胺 (Polyamines, PAs) 是植物体代谢过程中产生的具有调控作用的低分子量脂肪族含氮碱。以往的研究表明, 多胺, 尤其是精胺 (Spermine, Spm), 亚精胺 (Spermidine, Spd)、腐胺 (Putrescine, Put) 与尸胺 (Cadavarine, Cad) 广泛分布于植物体内, 能调节植物的生长发育 (Galston and Sawhney, 1990; Rastogi and Sawhney, 1990; Walden 等, 1997)。对许多高等植物开花结实具有积极的调控作用 (Kakkar and Ral, 1993; Walden 等, 1997), 其作用机理可能是多胺参与核酸与蛋白质等生物大分子物质的代谢过程 (Bagni 等, 1981; 郭枫和唐锡华, 1990; 李新利和唐锡华, 1997)。现在, 大量的研究表明, 多胺能够促进雌雄蕊的发育, 促进受精过程。外源喷施精胺、腐胺与亚精胺能够增加植物花芽的数目, 特别是在内源水平低的情况下, 促进花芽形成的效果更加明显 (徐继忠和陈海红, 1998; 徐继忠和李晓东, 2001)。

一串红株型美观, 花色鲜艳, 花期较长, 具有较高的观赏价值, 但其胚胎败育情况普遍, 结实率很低, 一般只有 10% 左右, 这大大影响了一串红种子的生产。多胺类物质作为新发现的一

* **通讯作者**: Author for correspondence; E-mail: bzhu@neau.edu.cn; Tel: 0451-55190104
收稿日期: 2007-10-26, 2008-02-19 接受发表
作者简介: 胡国富 (1974-) 男, 副教授, 博士, 主要从事植物学与分子生物学研究。E-mail: guofuh2003@yahoo.com.cn

类植物生理活性物质，已知与细胞分裂、胚胎发育、开花座果、生长和休眠以及衰老等生命活动紧密相关。但其在一串红胚胎发育中的作用，尚未见报道。

该实验通过对一串红胚胎发育不同阶段多胺物质的变化规律进行研究，来探讨多胺在一串红胚胎发育中的生理作用。

1　材料与方法

1.1　实验材料

实验材料为美国进口太阳神系列红色一串红。定期取材镜检，确定各个发育时期与外部形态的关系，把正常和败育一串红分为 5 个时期取材:

时期 1 为花芽分化结束时期;

时期 2 为小孢子分化完成时期;

时期 3 为大孢子分化完成时期;

时期 4 为盛花期;

时期 5 为谢花期。

按 5 个时期各取材 2 g，3 次重复，存于 - 80℃冰箱备用。

1.2　实验方法

本实验采用薄层荧光法 (李宗霆和周燮，1996) 测定一串红胚胎发育 5 个时期的内源精胺 (Spm)、亚精胺 (Spd)、尸胺 (Cad) 和腐胺 (Put) 的浓度及其变化。取材料 0.5 g，加 5 ml 5% 高氯酸研磨匀浆，震荡提取 0.5 h，7 000 r/m 离心 20 min，取 200 μl 提取液及多胺标液，加 400 μl 丹磺酰氯和 200 μl 饱和碳酸钠，搅拌室温过夜，加入 100 μl 脯氨酸搅拌 30 min，500 μl 苯萃取 1 min，取上层有机相 20 μl 在硅胶板上点样，在相应层析缸中展开，于紫外灯下剥板，剥取物加 3 ml 乙酸乙酯，蜗旋 18 s，自然沉淀，取上清液，在荧光分光光度计下 (激活波长 350 nm，荧光波长 495 nm) 测定多胺含量，重复 3 次。精胺 (Spm)、亚精胺 (Spd)、尸胺 (Cad) 和腐胺 (Put) 的标准样品为 sigma 公司产品。

2　结果与分析

一串红胚胎发育受到胚珠内的多胺含量及其变化的影响。一串红往往在同一植株上，同时存在正常与败育的两种胚珠，为验证两种典型胚胎发育过程中一串红胚珠多胺的变化规律，本试验对一串红正常和败育胚珠中多胺含量进行了测定。4 种多胺类物质测定结果如图 1: a～d 所示。

在花发育过程中，精胺 (Spm) 的含量 (图 1: a) 在花芽分化结束期呈现出较低的水平，但随着小孢子继续分化成熟，正常发育和败育胚珠中精胺 (Spm) 含量均升高至最高点，二者相差甚小，在以后的发育过程中，二者含量均有不同程度的降幅，在大孢子发育结束时，降幅差异不大，但从盛花期开始，降幅差距增大，在败育胚珠中，降幅较大。

两种不同类型的胚珠中的亚精胺的变化如图 1: b 所示，在花芽分化结束时，亚精胺 (Spd) 含量正常胚珠高于败育胚珠，到小孢子分化结束的过程中，正常胚珠含量升幅要高于败育胚珠，随后，败育胚珠继续下降，而正常胚珠在到大孢子发育成熟时略有降幅后，在盛花期则出现一个较高的含量峰值。

从图 1: c 中可以看出，在不同的花的发育过程中尸胺 (Cad) 的变化趋势较相似，在大孢子发育之前，均呈上升趋势，但正常胚珠上升较快，含量在第三时期达最高，以后则均呈下降趋势，降幅较为相似。

腐胺 (Put) 的变化表现出同精胺相反的变化趋势 (图 1: d)，腐胺 (Put) 在花芽分化结束时，含量较高，但在小孢子分化结束时，降到最低，在以后的时期中，均有上升的趋势，但正常胚珠上升较快，尤其是在受精之后，含量较高。

从图中看出，胚胎发育正常和败育的花在大孢子发育完全之前，Spm 和 Put 含量没有明显差异，但是发育正常的胚珠中 Spd 和 Cad 含量均显著高于败育的胚珠。在此后各发育阶段中，除了 Put 以外，其它多胺含量都呈下降趋势，虽然在含量上正常发育的胚珠仍始终高于败育胚珠，但降幅则是后者大于前者，在盛花期降幅最大，随后各发育阶段的降幅差异不大。上述结果表明，一串红的胚胎败育和胚珠中较低的多胺含量及其在发育进程中较大的降幅有关，这与形态学上观察到的一串红的大小孢子发育均正常，而正常开花后出现败育的结果相一致。特别值得注意的是，在正常胚珠中，Spd 的含量在盛花期有一个明显的峰值，此时正处在双受精时期，也就是胚胎发育的关键时期，而败育的胚珠中却没有出现这种现象，这表明 Spd 含量的这一特征性变化在胚胎发育中起关键作用。

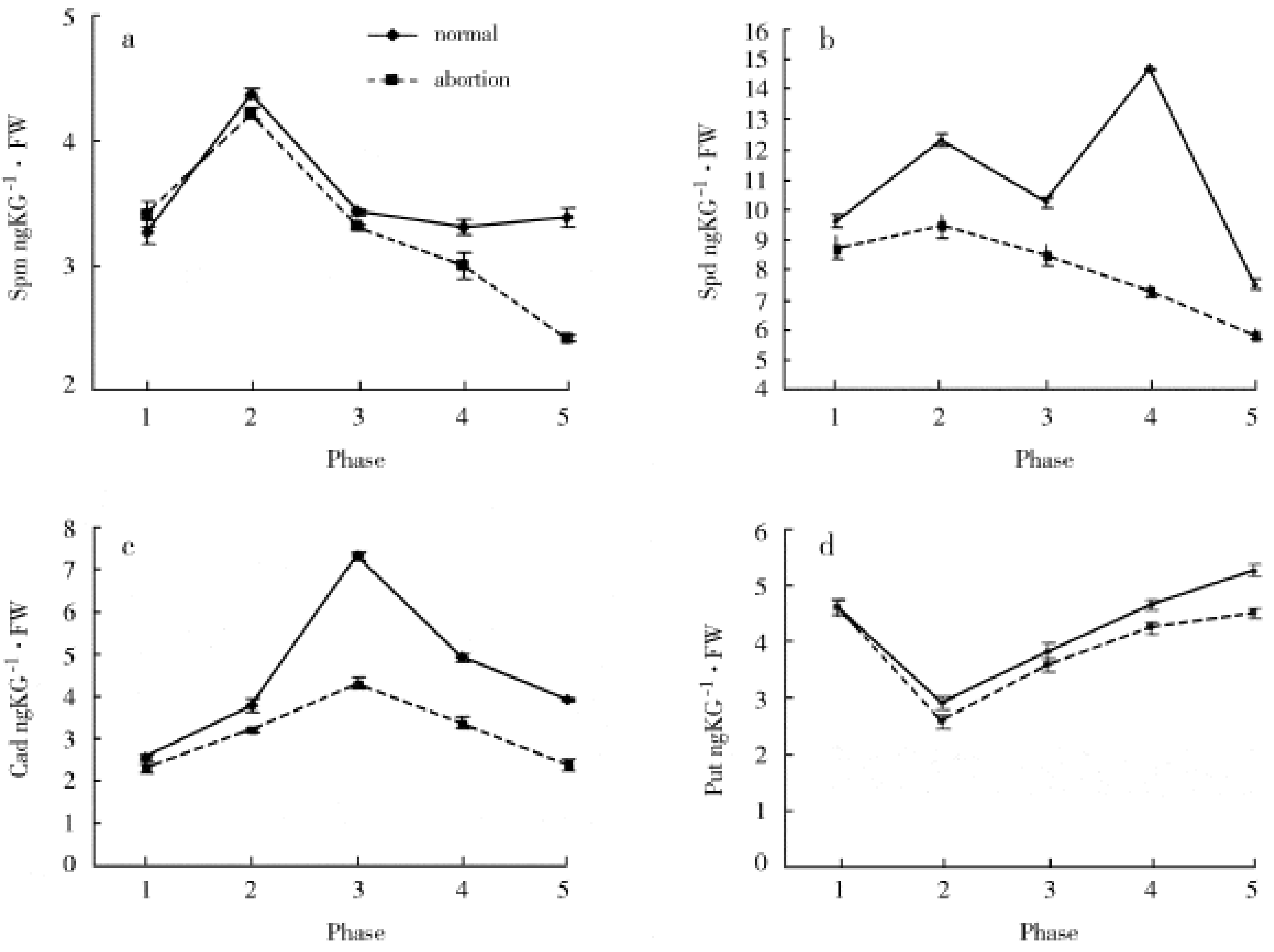

图 1　一串红正常发育和败育胚珠内多胺的含量变化

a. 精胺；b. 亚精胺；c. 尸胺；d. 腐胺；1. 花芽分化结束期；2. 小孢子分化完成期；3. 大孢子分化完成期；4. 盛花期；5. 谢花期

Fig. 1　Dynamics of polyamires content in normal development and aborted ovules of *S. splendens*

a. Spermine; b. Spermidine; c. Cadavarine; d. Putrescine; 1. the finish phase of flower bud differentiation; 2. the maturation phase of microspore; 3. the maturation phase of megaspore; 4. flourishing flower phase; 5. deflorate phase

3　讨论

崔凯荣等（1993）认为，双子叶植物枸杞和单子叶植物小麦在体细胞胚发育过程中有相似的多胺动态，不同的多胺含量变化有相同的趋势，其中 Put 不仅含量高，而且变幅大，呈现锯齿形曲线。陈伟等（2000）对荔枝的研究中，认为荔枝胚胎发育早期较高含量的多胺可能对促进胚胎发生具有重要作用，较高的 Put 含量和早期胚胎的细胞分裂密切相关，Spd 和 Spm 含量的急剧下降不利于胚胎的分化和发育。而在正常胚珠中 3 种多胺的含量在胚胎发育的各阶段均高于败育胚珠，说明较高含量的多胺保证了合子胚的分化发育。而败育胚珠中，尤其在胚胎败育期 Spd 和 Spm 含量的下降速度比正常胚珠快得多，(Spd + Spm)/Put 和 Spm/PAs 比值均为最低点，说明此期多胺代谢发生了紊乱，平衡已经失调，这可能是造成荔枝胚胎败育的重要生理原因。龙眼胚胎正常发育与败育胚珠的多胺含量规律（梁文裕和陈伟，2005）与陈伟的研究结果具有一致性。

本文意在研究从花芽分化到谢花期 5 个阶段的多胺变化规律，结果发现，4 种多胺的含量在不同阶段并不具有一致性，其中在绝对含量上，从花芽分化开始，亚精胺的含量最高。到了小孢子发育成熟的过程中，精胺、亚精胺和尸胺的含量呈上升趋势，只有腐胺略有下降，这说明小孢子发育对前三者的含量要求较高，而到达大孢子发育成熟的阶段中，精胺和亚精胺的含量下降，与钟晓红（2000）对沙田柚的研究中，发现花药中 Put、Spd、Spm 含量逐渐降低的结果相类似，而尸胺和腐胺的含量继续升高，这可能突出了尸胺和腐胺对大孢子发育的重要性；而在盛花期，也就是进行受精的阶段中，亚精胺和腐胺的含量

出现最高值，说明二者在受精过程中起主要的作用，这与张秋明等（1997）对华盛顿脐橙和宫川温州蜜柑的研究中尸胺及亚精胺含量在盛花期达到最高，而精胺变化则稍迟的结果相一致，只有精胺和尸胺含量略走低。在到达谢花期的过程中，即受精完成后、尚未进行胚胎发育的过程中，除腐胺外，其他含量迅速走低，这与郑玉生等（1997）的研究中，两种植物花期 PAs 均呈低 - 高 - 低的总体变化趋势相吻合。但在谢花期，腐胺的含量最高，有上升的趋势，这说明较多含量的腐胺有利于坐果和幼果发育。梁文裕和陈伟(2005) 对两个品种的龙眼胚珠中多胺含量的研究表明，在受精后的胚胎发育初期多胺含量即达最高值，其中腐胺含量约占多胺含量的 65%，郭枫和唐锡华（1990）对发育早期正在旺盛进行细胞分裂的水稻的研究也有腐胺含量保持较高水平的结论。

本研究中，虽然中间阶段各种多胺含量有所变化，但总量上呈下降的趋势，这与钟晓红(2000) 对沙田柚的研究的结果相类似，即从蕾期到第一次生理落果，幼果内 PAs 呈下降趋势，但受精果比未受精果下降速度缓慢。

在本实验中，正常发育的胚珠中 4 种多胺的含量在胚胎发育的各个阶段均高于败育胚珠，败育胚珠中，尤其在胚胎败育期，Spd、Cad 和 Spm 含量的下降速度比正常胚珠快得多，说明较高含量的多胺保证了雌雄配子体及胚胎的正常发育，这与郭枫和唐锡华（1990）对水稻、陈伟和吕柳新（2000）对荔枝和梁文裕和陈伟（2005）对龙眼的研究有较大的相似性。

以上的研究结果表明，多胺含量的变化可能是造成一串红胚胎败育的重要生理原因之一，而且亚精胺的含量对受精的完成可能起着关键性的作用、而腐胺的升高可能更有利于胚胎的后期发育。

〔参 考 文 献〕

李宗霆，周燮，1996. 植物激素及免疫检测技术 [M]. 南京：江苏科技出版社，100—191

Bagni N, Adamo P, Serafini-Fracassini D, 1981. RNA, proteins and polyamines during tube growth in geminating apple pollen [J]. *Plant Physiol*, **68**: 727—730

Cui KR (崔凯荣), Chen KM (陈克明), Wang XZ (王晓哲), 1993. Current research on plant somatic embryogenesis [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), **10** (3): 173—178

Chen W (陈伟), Lv LX (吕柳新), 2000. Changes in polyamine content in relation to embryo development in Litchi ovules [J]. *J Trop Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), **8** (3): 229—234

Galston AW, Sawhney RK, 1990. Polyamine in plant physiology [J]. *Plant Physiol*, **94** (1): 406—410

Guo F (郭枫), Tang XH (唐锡华), 1990. Polyamines in rice embryo and endosperm during their development [J]. *Acta Photophysiol Sin* (植物生理学报), **16** (2): 173—178

Kakkar R, Ral VK, 1993. Plant polyamines in flowering and fruit ripening [J]. *Phytochemistry*, **33** (6): 1281—1288

Lang WY (梁文裕), Chen W (陈伟), 2005. Relationship between embryonic development and changes of endogenous polyamines in Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) ovules [J]. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), **11** (3): 286—288

Li X L (李新利), Tang XH (唐锡华), 1997. Changes of polyamines, protein and nucleic acid from rice pistil during pre- and post-fertilization [J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **33** (2): 88—90

Rastogi R, sawhney VK, 1990. Polyamines and flower development in the male sterile stamenless-2 mutant of tomato *Lycopersilav esalentum* Mill. II Effects of polyamines and their biosynthetic inhibitors on the development of normal and mutant floral buds cultured *in vitro* [J]. *Plant Physiol*, **93** (1-2): 446—452

Walden R, Cordeiro A, Tiburcios AF, 1997. Polyamines small molecules triggering pathways in plant growth and development [J]. *Plant Physiol*, **116**: 617—625

Xu JZ (徐继忠), Chen HH (陈海红), 1998. Effects of exogenous polyamines on flower bud formation of red fuji apple variety [J]. *J Fruit Sci* (果树科学), **15** (1): 10—12

Xu JZ (徐继忠), Li XD (李晓东), 2001. Effects of exogenous spermidine on the levels of endogenous hormones and polyamines in the flowers and fruit lets of Red Fuji Apple [J]. *Acta Hort Sin* (园艺学报), **28** (3): 206—210

Zheng QM (张秋明), Xiao LT (肖浪涛), Zheng YS (郑玉生) *et al.*, 1997. Studies on polyamine metabolism and its regulation of growth and fruit set in citrus Ⅰ. Analysis of the metabolic correlation between ammonia, arginine, and put rescine of detached citrus leaves [J]. *J Hunan Agric Univ* (湖南农业大学学报), **23** (5): 440—444

Zhong XH (钟晓红), 2000. Physiological function of three polyamines in shatian pummelo during blossom and fruit setting [J]. *J Hunan Agric Univ* (湖南农业大学学报), **26** (6): 453—456

Zheng YS (郑玉生), Zheng QM (张秋明), Lovatt CJ, 1997. Polyamines metabolism during citrus anthesis and its effects on fruit set [J]. *J Fruit Sci* (果树科学), **14** (4): 216—219